

Badania genetycznych predyktorów wieku menopauzy naturalnej. Przegląd piśmiennictwa

The study of genetic predictors of age at natural menopause. A literature review

Ewa Szwejser¹, Anna Marczakiewicz²

¹Zakład Antropologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie;

kierownik Zakładu: dr hab. Henryk Głąb

²Zakład Genetyki i Ewolucjonizmu Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie;

kierownik Zakładu: prof. dr hab. Józefa Styrna

Przegląd Menopauzalny 2012; 6: 495–500

Streszczenie

W świetle obserwowanego w ostatnich latach wzrostu średniej długości życia populacji związanego z rozwojem medycyny, informacji prozdrowotnej, a także poprawą warunków socjoekonomicznych coraz większą uwagę badaczy zwracają problemy zdrowotne wieku późnej dorosłości, m.in. związane ze zjawiskiem menopauzy. Niemal jedna trzecia życia kobiet przypada obecnie na okres pomenopauzalny. Wiek, w jakim dochodzi do pojawienia się menopauzy, może być wyznacznikiem kondycji biologicznej populacji, a także miernikiem ryzyka zapadalności na niektóre schorzenia, takie jak osteoporoza oraz nowotwory piersi i narządów płciowych. Możliwość przewidywania długości okresu reprodukcyjnego w indywidualnych przypadkach może mieć również duże znaczenie dla planowania rodziny, a także leczenia niepłodności.

Obecnie dostępne są wyniki licznych badań poświęconych analizie wpływu czynników środowiskowych oraz biologicznych na wiek wystąpienia menopauzy naturalnej. Nie wyjaśniają one jednak w pełni spektrum różnicowania tego zjawiska. O tym, kiedy następuje menopauza, decyduje bowiem współdziałanie czynników genetycznych, biologicznych oraz środowiskowych. W ostatniej dekadzie nastąpił rozwój badań mających na celu zidentyfikowanie genów odpowiedzialnych za wiek wystąpienia menopauzy naturalnej.

Niniejszy artykuł stanowi przegląd piśmiennictwa dotyczącego badań genetycznych markerów menopauzy. W badaniach poświęconych tej kwestii można wyróżnić 3 podstawowe metody badawcze: badania sprzężeń w obrębie całego genomu (*genome wide-linkage analysis*), badania asocjacyjne genów kandydackich (*candidate gene association studies*) oraz ogólnogenomowe badania asocjacyjne (*genome-wide association studies* – GWAS). W niniejszym artykule zostaną opisane możliwości ich zastosowania, ograniczenia oraz wyniki badań prowadzonych z ich użyciem.

Słowa kluczowe: wiek wystąpienia menopauzy, GWAS, warianty genetyczne.

Summary

In light of the increased life expectancy of the population associated with the development of modern medicine, health-related information and socioeconomic conditions, more and more researchers are focused on health problems related to the late adulthood, and menopause. The age of menopause appearance may be an indicator of the biological condition of the population. It also might be a determinant of the risk of incidence of diseases such as osteoporosis, breast or genital cancers. Prediction of the reproductive period's length in the individual cases may be very important for family planning and infertility treatment.

Currently, there are numerous studies devoted to the analysis of the environmental and biological factors of natural menopause. However, they do not explain the whole spectrum of diversity of this phenomenon. The interaction of genetic, biological and environmental factors decide when menopause occurs. A huge development of research regarding the identification of genes responsible for natural menopause age has been observed in the last decade.

This article provides an overview of research about genetic markers of menopause. In the studies devoted to this issue, we can distinguish three basic methods: genome-wide linkage analysis, candidate gene association studies, and genome-wide association studies - GWAS. In this article we describe the applicability, limitations and test results as well as the usage of these methods.

Key words: menopause, age at menopause, GWAS, genetic variants.

Adres do korespondencji:

Ewa Szwejser, Zakład Antropologii, Uniwersytet Jagielloński, ul. Gronostajowa 9, 30-387 Kraków

W ciągu ostatniej dekady zainteresowanie badaczy zagadnieniami związanymi z wygasaniem fizjologicznych czynności jajników oraz wiekiem, w jakim dochodzi do pojawienia się menopauzy naturalnej, znacznie wzrosło. Odkąd wiadomo, że wiek pojawienia się menopauzy może być dobrym miernikiem ryzyka zapadalności na wiele schorzeń, takich jak osteoporoza, nowotwory narządów płciowych, choroby układu krążenia, przewodu pokarmowego czy wydalniczego, a także wyznacznikiem zdrowia i kondycji biologicznej populacji, coraz częściej podejmowane są próby wyjaśnienia uwarunkowań tego zjawiska. Badania dotyczące zróżnicowania wieku, w jakim dochodzi do menopauzy naturalnej, są ważne szczególnie w świetle obserwowanego w ostatnich latach wzrostu średniej długości życia populacji powiązanego z rozwojem medycyny, informacji prozdrowotnej, a także poprawą warunków socjoekonomicznych.

Menopauza jest zjawiskiem złożonym, na które wpływa wiele powiązanych ze sobą czynników. Zgodnie z zaleceniami Światowej Organizacji Zdrowia o menopauzie naturalnej mówi się, gdy u kobiety miesiączki ustały z powodu fizjologicznego zaniku aktywności jajników i nie pojawiały się przez okres *amenorrhoea*, czyli 12 miesięcy od ostatniego krwawienia miesięcznego. Obecnie przyjmuje się, że wiek pojawienia się menopauzy wśród kobiet w Polsce wynosi 49 lat [1]. Istnieją liczne badania poświęcone analizie wpływu czynników środowiskowych oraz biologicznych na wiek wystąpienia menopauzy naturalnej. Pomimo wielu prac poświęconych temu zagadnieniu kwestia uwarunkowań zmienności momentu wystąpienia menopauzy naturalnej pozostaje jednak ciągle otwarta, a dostępne badania wyjaśniają jej przyczyny jedynie w niewielkim stopniu. Liczni autorzy wskazują na konieczność prowadzenia dalszych badań dotyczących czynników wpływających na wiek pojawienia się menopauzy naturalnej.

Prowadzone w ostatniej dekadzie badania ujawniły, że duży wpływ na zmienność wieku, w jakim dochodzi do pojawienia się menopauzy naturalnej, mają czynniki genetyczne, czego potwierdzeniem są wysokie wskaźniki odziedziczalności tej cechy (31–87% odziedziczalności) otrzymane niezależnie przez różne zespoły badawcze [2, 3]. Szeroki zakres odziedziczalności świadczy jednocześnie o stopniu trudności, jaki niesie badanie tej cechy. Poza tym w przypadku cech ilościowych odziedziczalność nie może być używana jako jedyna wiarygodna miara wpływu czynników genetycznych na tę cechę ze względu na to, że czynniki genetyczne

i środowiskowe wpływają na siebie nawzajem. Dlatego też nieprawidłowym podejściem jest sumowanie wpływu różnych czynników środowiskowych i genetycznych do 100% [4]. Fakt istotnego wpływu czynników genetycznych na wiek wystąpienia naturalnej menopauzy jest jednak bezsporny, dlatego też najnowsze badania skupiają się na wykryciu genów i polimorfizmów wskazujących największe asocjacje z wiekiem wystąpienia naturalnej menopauzy. Celem niniejszego artykułu jest przedstąpienie najnowszych wyników analiz dotyczących genetycznych predyktorów menopauzy.

W tym celu stosowane są zazwyczaj 3 główne metody: badania sprzężeń w obrębie całego genomu (*genome wide-linkage analysis*), badania asocjacyjne genów kandydackich (*candidate gene association studies*) oraz ogólnogenomowe badania asocjacyjne (*genome-wide association studies* – GWAS).

Badania sprzężeń w obrębie całego genomu opierają się na analizie zestawu *loci* typu STR (*short tandem repeats*) rozmieszczonych w całym genomie [5]. Grupę badawczą stanowią osoby spokrewnione. Sprzężenie występuje, gdy określone *loci* są przekazywane łącznie z rodziców na potomstwo częściej niż jest to przewidywane przy niezależnym dziedziczeniu [6]. Jeżeli marker jest przekazywany z pokolenia na pokolenie tak, że zawsze towarzyszy określonemu wiekowi występowania menopauzy, znaczy to, że wariant genetyczny determinujący tę cechę znajduje się w jego pobliżu (jest z nim sprzężony) [7]. Analiza sprzężeń pozwala na identyfikację rozległych regionów w genomie, obejmujących wiele genów bez konieczności posiadania wiedzy na temat mechanizmów ich działania na badaną cechę, dlatego zazwyczaj jest przeprowadzana jako pierwszy etap wykrywania genów i *loci* determinujących wiek wystąpienia naturalnej menopauzy [6]. Badania sprzężeń przynoszą najlepsze efekty przy wykrywaniu genów odpowiedzialnych za cechy monogenowe. Niestety, analizy cech ilościowych dają wyniki o niższej istotności statystycznej [7]. W latach 2004 i 2005 przeprowadzono 2 badania tego typu, które wykazały, że za wiek wystąpienia naturalnej menopauzy odpowiedzialne są rejon chromosomów 9, X [8], 8, 11 oraz 16 [9] (tab. I).

Badania asocjacyjne genów kandydackich obejmują analizę *loci* typu SNP (*single nucleotide polymorphism*; polimorfizm pojedynczych nukleotydów) i nie wymagają pokrewieństwa osób z grupy badawczej. Analizie poddawane są polimorfizmy leżące w genach, które w wyniku wcześniejszych badań (np. analizy sprzężeń w skali całego genomu) zostały wytypowane jako mają-

Tab. I. Wyniki badań sprzężeń w skali całego genomu [12]

Autor publikacji	Rok publikacji	Region sprzężony	Liczba badanych osobników	Liczba markerów STR
van Asselt i wsp. [25]	2004	9q21.3 Xp21.3	579 (165 rodzin)	417
Murabito i wsp. [9]	2005	chromosomy 8, 11, 16	861 (291 rodzin)	401

ce związek z badaną cechą. Zaletą badań asocjacyjnych genów kandydackich jest możliwość identyfikacji konkretnych *loci* typu SNP związanych z analizowaną cechą [5]. W przypadku menopauzy stwierdzono, że geny kandydackie zaangażowane m.in. w biosyntezę hormonów steroidowych (np. gen kodujący aromatazę – enzym odpowiedzialny za konwersję androgenów do estrogenów) [10] oraz związane z funkcją naczyń krwionośnych

(np. gen dla apolipoproteiny E kodujący białkową część lipoproteiny wiążącej lipidy) [11] są istotnie związane z wiekiem jej wystąpienia. Pełne zestawienie *loci* SNP zasocjowanych z wiekiem wystąpienia naturalnej menopauzy przedstawiono w tabelach II, III oraz IV.

Ogólnogenomowe badania asocjacyjne (GWAS) polegają na analizie *loci* typu SNP leżących w całym genomie. Analiza tego typu nie wymaga spokrewnionej gru-

Tab. II. Wyniki badań asocjacyjnych genów kandydackich zaangażowanych w biosyntezę hormonów steroidowych [12]

Gen kandydacki	Polimorfizm	Autor publikacji	Rok publikacji	Liczba badanych osobników	Populacja	Model dziedziczenia	Wpływ na wiek menopauzy [lata]	Poziom istotności
AMH	rs10407022	Kevenaar i wsp. [16]	2007	2381	biała	kodominujący	+0,1	0,66
		Kevenaar i wsp. [16]	2007	248	biała	kodominujący	+1,0	0,58
AMHR2	rs2002555	Kevenaar i wsp. [16]	2007	2381	biała	kodominujący	-2,6	0,005
		Kevenaar i wsp. [16]	2007	248	biała	kodominujący	-2,8	0,054
COMT	Hsp II 92	Gorai i wsp. [17]	2003	250	japońska	dominujący	0,00	0,735
	Val 158Met	Hefler i wsp. [18]	2005	1348	biała	dominujący	-0,1	0,7
CYP1A1	Msp I	Gorai i wsp. [17]	2003	250	japońska	kodominujący	+0,9	0,287
		Hefler i wsp. [18]	2005	1346	biała	dominujący	+0,1	0,7
	Ile462Val	Hefler i wsp. [18]	2005	1349	biała	dominujący	-0,1	0,9
CYP1B1	rs1056836	Hefler i wsp. [18]	2005	1360	biała	dominujący	+0,4	0,3
		Long i wsp. [19]	2006	797	chińska	dominujący	-1,0	0,004
		Mitchell i wsp. [20]	2008	64	biała	kodominujący	-1,8	0,18
	rs1800440	Hefler i wsp. [18]	2005	1360	biała	dominujący	-0,8	0,007
	rs1056827	Long i wsp. [19]	2006	797	chińska	dominujący	+1,2	0,04
		Mitchell i wsp. [20]	2008	64	biała	kodominujący	-1,3	0,45
	rs10012	Long i wsp. [19]	2006	797	chińska	dominujący	+0,7	0,02
CYP17A1	rs1056837	Long i wsp. [19]	2006	797	chińska	dominujący	-0,3	0,78
	MspA 1	Gorai i wsp. [17]	2003	250	japońska	kodominujący	-0,6	0,496
	A2 allele T/C	Hefler i wsp. [18]	2005	1348	biała	dominujący	+0,4	0,07
	7 SNPs	He i wsp. [10]	2007	229	biała	kodominujący	nieokreślony	> 0,05
	rs743572	Mitchell i wsp. [20]	2008	64	biała	kodominujący	-0,5	0,79
CYP19A1	7r(-3)	Mitchell i wsp. [20]	2008	64	biała	kodominujący	+2,6	0,04
	rs10046	Mitchell i wsp. [20]	2008	64	biała	kodominujący	-0,9	0,59
	rs1065778	He i wsp. [10]	2007	229	biała	kodominujący	nieokreślony	0,048
	rs2255192	He i wsp. [10]	2007	229	biała	kodominujący	nieokreślony	0,035
	Rs700519	Hefler i wsp. [18]	2005	152	biała	dominujący	+0,2	0,7
ESR1	C1558T	Hefler i wsp. [18]	2005	152	biała	dominujący	+0,4	0,2
	HSD17 v1V	Hefler i wsp. [18]	2005	984	biała	dominujący	-0,2	0,8
	rs2234693 (PvuII)	Gorai i wsp. [17]	2003	315	japońska	kodominujący	-0,3	0,863
	rs9340799 (XbaI)	Gorai i wsp. [17]	2003	315	japońska	kodominujący	+0,4	0,842
	Blok 1	He i wsp. [10]	2007	229	biała	kodominujący	nieokreślony	0,048
ESR2	Blok 2	He i wsp. [10]	2007	229		kodominujący	nieokreślony	0,035
FSHR	rs6166	Zerbetto i wsp. [21]	2008	251	włoska	dominujący	+1	0,132
	rs2830	Mitchell i wsp. [20]	2008	64	biała	kodominujący	+1,9	0,03
HSD17B1	rs615942	Mitchell i wsp. [20]	2008	64	biała	kodominujący	-2,0	0,07
	rs592389	Mitchell i wsp. [20]	2008	64	biała	kodominujący	+1,8	0,09
SRD5A2	V89Lkodon89	Huber i wsp. [22]	2006	323	biała	kodominujący	-1,1	0,5

Tab. III. Wyniki badań asocjacyjnych genów kandydackich związanych z funkcjonowaniem naczyń krwionośnych [12]

Gen kandydacki	Polimorfizm	Autor publikacji	Rok publikacji	Liczba badanych osobników	Populacja	Model dziedziczenia	Wpływ na wiek menopauzy [lata]	Poziom istotności
AGT	Met235Thyr	Tempfer i wsp. [23]	2005	354	biała	dominujący	-0,6	0,1
		Tempfer i wsp. [23]	2005	354	biała	dominujący	+1,5	0,03
	rs7412	van Disseldorp i wsp. [24]	2008	742	biała	kodominujący	-2,4	0,32
		He i wsp. [11]	2009	253	biała	kodominujący	nieokreślony	0,255
APOE	rs769450	He i wsp. [11]	2009	253	biała	dominujący	-1,93	0,007
	rs429358	Tempfer i wsp. [23]	2005	354	biała	dominujący	0	0,9
		He i wsp. [11]	2009	253	biała	kodominujący	nieokreślony	0,592
		Tempfer i wsp. [23]	2005	354	biała	dominujący	+0,3	0,8
F II	G20 210A	van Disseldorp i wsp. [24]	2008	741	biała	kodominujący	-8,03	0,05
	Ins/del-323	van Disseldorp i wsp. [24]	2008	742	biała	kodominujący	+0,8	0,02
F VII	Arg353Gln	van Disseldorp i wsp. [24]	2008	742	biała	kodominujący	+0,5	0,15
F V	Arg506Gln	van Disseldorp i wsp. [24]	2008	743	biała	kodominujący	-1,96	0,64
Leiden	G1691A	Tempfer i wsp. [23]	2005	354	biała	dominujący	-2,4	0,03
	haplotyp B	Liu i wsp. [25]	2010	210	biała	dominujący	-2,67	0,04
MTHFR	haplotyp D	Liu i wsp. [25]	2010	210	biała	dominujący	-2,65	0,04
	6 pozycji SNP	Liu i wsp. [25]	2010	210	biała	dominujący	nieokreślony	> 0,05
	T-786C	Tempfer i wsp. [23]	2005	354	biała	dominujący	+0,1	0,8
Nos3	Glu298Asp	Tempfer i wsp. [23]	2005	354	biała	dominujący	0	0,9
	Intron4	Hefler i wsp. [26]	2002	91	biała	dominujący	+4	0,56
PAI-1	4G/5G	Tempfer i wsp. [23]	2005	354	biała	dominujący	-0,9	0,1

Tab. IV. Wyniki badań asocjacyjnych innych genów kandydackich [12]

Gen kandydacki	Polimorfizm	Autor publikacji	Rok publikacji	Liczba badanych osobników	Populacja	Model dziedziczenia	Wpływ na wiek menopauzy [lata]	Poziom istotności
DAZL	DAZL260 A/G	Zerbetto i wsp. [21]	2008	251	włoska	dominujący	0	0,97
HDC	rs854163	Zhang i wsp. [27]	2006	265	biała	log-addytywny	+1,58	0,015
IL-1RA	powtórzenia 86-pz	Riener i wsp. [28]	2004	90	biała	kodominujący	+1	0,4
	rs1544410	Grimm i wsp. [29]	2005	507	biała	kodominujący	0	0,7
VDR	3SNPs	Dvornyk i wsp.	2006	260	biała	kodominujący	nieokreślony	0,05

py badawczej ani wcześniejszych założeń co do funkcji genów, w których znajdują się badane *loci* polimorficzne. Do zalet tej metody należy możliwość precyzyjnej lokalizacji *loci* odpowiedzialnych za zmienność badanej cechy [5], szybkość analizy, którą zapewnia zastosowanie mikromacierzy umożliwiających jednoczesne genotypowanie ok. 500 000 SNP, oraz możliwość wykrycia *loci*, które nie zostałyby zidentyfikowane metodą badań asocjacyjnych genów kandydackich, ponieważ geny, w których się znajdują, nie były wcześniej wiązane z wiekiem wystąpienia menopauzy [12]. Badania asocjacyjne całego genomu mają również wady, do których należy np. (podobnie jak w przypadku badań asocjacyjnych genów kandydackich) brak możliwości wykrycia alleli o małej częstości w populacji, które jednak mogą wywierać duży wpływ na zmienność badanej

cechy [5]. Do tej pory w wyniku badań GWAS wykryto, że z wiekiem wystąpienia naturalnej menopauzy związane są pozycje SNP leżące na chromosomach 5, 19, 20 [13, 14], 2 [15], 13 [14] oraz 6 [13]. Szczegółowe wyniki badań GWAS przedstawiono w tabeli V.

W wyniku badań opisanych wyżej wykryto wiele regionów i konkretnych *loci* związanych z wiekiem wystąpienia naturalnej menopauzy. Niepokojący jest natomiast fakt, iż wyniki otrzymane trzema powyższymi metodami wskazują na istnienie odmiennych pozycji polimorficznych odpowiedzialnych za wiek pojawienia się menopauzy naturalnej. Niezgodność wyników badań asocjacyjnych genów kandydackich wykonywanych przez różne zespoły badawcze można wyjaśnić tym, że dotyczą one różnych populacji, co może skutkować odmienną rolą danego wariantu SNP w każdej z nich. Po-

Tab. V. Wyniki badań asocjacyjnych w skali całego genomu [12]

Chromosom	Polimorfizm	Autor publikacji	Rok publikacji	Wpływ na wiek menopauzy [lata]	Poziom istotności	Pobliskie geny
19q13.4	rs1172822	He i wsp. [13]	2009	-0,49	1.80E-19	BRSK1, THEM224, SUV420H2
		Stolk i wsp. [14]	2009	+0,391	6.28E-11	BRSK1, THEM224, SUV420H2
	rs2384687	He i wsp. [13]	2009	-0,47	2.40E-18	BRSK1, THEM224, SUV420H2
		Stolk i wsp. [14]	2009	-0,381	1.39E-10	BRSK1, THEM224, SUV420H2
	rs1551562	He i wsp. [13]	2009	-0,43	2.60E-12	BRSK1, THEM224, SUV420H2
		Stolk i wsp. [14]	2009	-0,428	1.04E-09	BRSK1, THEM224, SUV420H2
	rs897798	He i wsp. [13]	2009	-0,4	1.10E-14	BRSK1, THEM224, SUV420H2
		Stolk i wsp. [14]	2009	-0,308	3.91E-08	BRSK1, THEM224, SUV420H2
	rs7246479	He i wsp. [13]	2009	+0,36	2.30E-12	BRSK1
	rs12611091	He i wsp. [13]	2009	+0,33	6.60E-10	HSPBP1, BRSK1
20p12.3	rs16991615	He i wsp. [13]	2009	+1,07	1.20E-21	TRMT6, MCM8
	rs236114	Stolk i wsp. [14]	2009	+0,495	9.71E-11	MCM8
	rs365132	He i wsp. [13]	2009	+0,39	8.40E-14	UIMC1
5q35.2	rs7718874	He i wsp. [13]	2009	+0,39	1.30E-13	UIMC1
	rs402511	He i wsp. [13]	2009	+0,39	1.40E-13	UIMC1, ZNF346
	rs691141	He i wsp. [13]	2009	+0,36	3.90E-12	HK3, UIMC1
	rs2278493	He i wsp. [13]	2009	-0,3	7.20E-08	UNC5A, HK3
	rs10496265	Lunetta i wsp. [15]	2007	nieokreślony	1.10E-08	
2	rs10496262	Lunetta i wsp. [15]	2007	nieokreślony	3.30E-07	
13q34	rs7333181	Stolk i wsp. [14]	2009	+0,52	2.50E-08	ARHGEF7
6p24.2	rs2153157	He i wsp. [13]	2009	+0,29	5.10E-08	GCM2, SYCP2L

nadto zdarzało się, że badaniom poddawana była zbyt mała liczba osób lub nie uwzględniano charakteru menopauzy [12]. Z kolei niezgodność wyników uzyskiwanych różnymi metodami jest wyjaśniana np. tym, że badania sprzężeń w skali całego genomu wykrywają rzadkie warianty alleli, a GWAS tylko częste i może to prowadzić do przeoczenia form genów najbardziej związanych z wiekiem menopauzy, ale rzadko występujących [5].

Konieczna jest zatem dalsza analiza wcześniej wykrytych i nowych regionów genomu odpowiedzialnych za wiek wystąpienia naturalnej menopauzy, uwzględniająca interakcje genów, zmiany epigenetyczne, badania genów biorących udział w apoptozie, rzadkich oraz wywierających słabe efekty wariantów genetycznych [12]. Będą to badania niezwykle ważne dla kobiet na całym świecie przede wszystkim z uwagi na możliwość zapobiegania chorobom nowotworowym oraz kardiologicznym, a także leczenia niepłodności oraz planowania zastępczej terapii hormonalnej.

Piśmiennictwo

- Kaczmarek M. The timing of natural menopause in Poland and associated factors. *Maturitas* 2007; 57: 139-53.
- Treloar SA, Do KA, Martin NG. Genetic influences on the age at menopause. *Lancet* 1998; 352: 1084-5.
- de Bruin JP, Bovenhuis H, van Noord PA, et al. The role of genetic factors in age at natural menopause. *Hum Reprod* 2001; 16: 2014-8.
- van Asselt KM, Kok HS, van der Schouw YT, et al. Role of genetic analyses in cardiology. Part II: heritability estimation for gene searching in multifactorial diseases. *Circulation* 2006; 113: 1136-9.
- Hirschhorn JN, Daly MJ. Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nat Rev Genet* 2005; 6: 95-108.
- Teare MD, Barrett JH. Genetic linkage studies. *Lancet* 2005; 366: 1036-44.
- Burton PR, Tobin MD, Hopper JL. Key concepts in genetic epidemiology. *Lancet* 2005; 366: 941-51.
- van Asselt KM, Kok HS, Putter H, et al. Linkage analysis of extremely discordant and concordant sibling pairs identifies quantitative trait loci influencing variation in human menopausal age. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 444-53.
- Murabito JM, Yang Q, Fox CS, Cupples LA. Genome-wide linkage to age at menopause. *Fertil Steril* 2005; 84: 1674-9.
- He LN, Xiong DH, Liu YJ, et al. Association study of the signalling pathway genes in relation to age at natural menopause. *J Genet* 2007; 86: 269-76.
- He LN, Recker RR, Deng HW, et al. A polymorphism of apolipoprotein E (APOE) gene is associated with age at natural menopause in Caucasian females. *Maturitas* 2009; 62: 37-41.
- Voorhuis M, Onland-Moret NC, van der Schouw YT, et al. Human studies on genetics of the age at natural menopause: a systematic review. *Hum Reprod Update* 2010; 16: 364-77.
- He C, Kraft P, Chen C, et al. Genome-wide association studies identify loci associated with age at menarche and age at natural menopause. *Nat Genet* 2009; 41: 724-8.
- Stolk L, Zhai G, van Meurs JB, et al. Loci at chromosomes 13, 19 and 20 influence age at natural menopause. *Nat Genet* 2009; 41: 645-7.
- Lunetta KL, D'Agostino RB, Sr, Karasik D, et al. Genetic correlates of longevity and selected age-related phenotypes: a genome-wide association study in the Framingham Study. *BMC Med Genet* 2007; 8 Suppl 1: S13.
- Kevenaar ME, Themmen AP, Rivadeneira F, et al. A polymorphism in the AMH type II receptor gene is associated with age at menopause in interaction with parity. *Hum Reprod* 2007; 22: 2382-8.

17. Gorai I, Tanaka K, Inada M, et al. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms, but not estrogen receptor-alpha gene polymorphisms, are associated with the onset of menarche in healthy postmenopausal Japanese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 799-803.
18. Hefler LA, Grimm C, Heinze G, et al. Estrogen-metabolizing gene polymorphisms and age at natural menopause in Caucasian women. *Human Reproduction* 2005; 20: 1422-7.
19. Long JR, Shu XO, Cai Q, et al. Polymorphisms of the CYP1B1 gene may be associated with the onset of natural menopause in Chinese women. *Maturitas* 2006; 55: 238-46.
20. Mitchell ES, Farin FM, Stapleton PL, et al. Association of estrogen-related polymorphisms with age at menarche, age at final menstrual period, and stages of the menopausal transition. *Menopause* 2008; 15: 105-11.
21. Zerbetto I, Gromoll J, Luisi S, et al. Follicle-stimulating hormone receptor and DAZL gene polymorphisms do not affect the age of menopause. *Fertil Steril* 2008; 90: 2264-8.
22. Huber A, Grimm C, Huber JC, et al. A common polymorphism within the steroid 5-alpha-reductase type 2 gene and timing of menopause in Caucasian women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2006; 125: 221-5.
23. Tempfer CB, Riener EK, Keck C, et al. Polymorphisms associated with thrombophilia and vascular homeostasis and the timing of menarche and menopause in 728 white women. *Menopause* 2005; 12: 325-30.
24. van Disseldorp J, Broekmans FJ, Peeters PH, et al. The association between vascular function-related genes and age at natural menopause. *Menopause* 2008; 15: 511-6.
25. Liu P, Lu Y, Recker RR, et al. Association analyses suggest multiple interaction effect of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms on timing of menarche and natural menopause in white women. *Menopause* 2010; 17: 185-90.
26. Hefler LA, Worda C, Huber JC, Tempfer CB. A polymorphism of the Nos3 gene and age at natural menopause. *Fertil Steril* 2002; 78: 1184-6.
27. Zhang F, Xiong DH, Wang W, et al. HDC gene polymorphisms are associated with age at natural menopause in Caucasian women. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 348: 1378-82.
28. Riener EK, Keck C, Worda C, et al. Body mass index but not a polymorphism of the interleukin-1 receptor antagonist (IL-1 RA) gene is associated with age at natural menopause. *Gynecol Obstet Invest* 2004; 58: 117-20.
29. Grimm C, Tempfer CB, Walch K, et al. The influence of a Vitamin D receptor gene polymorphism on the timing of female reproductive functions in humans. *Maturitas* 2005; 51: 135-9.